



TITLE:

Dynamic Delta - like1 expression in
presomitic mesoderm cells during somite
segmentation(Abstract_要旨)

AUTHOR(S):

Takagi, Akari

CITATION:

Takagi, Akari. Dynamic Delta - like1 expression in presomitic mesoderm cells during
somite segmentation. 京都大学, 2020, 博士(医学)

ISSUE DATE:

2020-03-23

URL:

<https://doi.org/10.14989/doctor.k22350>

RIGHT:

京都大学	博士（ 医学 ）	氏 名	高木 あかり
論文題目	Dynamic Delta-like1 expression in presomitic mesoderm cells during somite segmentation (体節形成における未分節中胚葉細胞の Delta-like 1 の発現動態)		
(論文内容の要旨)			
<p>細胞の集団がどのような情報を用いてパターンを作り出すかは、生物の形態形成を理解するために重要である。Notch シグナルは発生過程において細胞分化と増殖のタイミングを制御する重要なシグナル経路の一つである。体節は、脊椎動物の発生初期に一時的に現れる構造で、胎児が体軸方向に伸張する時期に左右対で決まった数だけ前方から順に周期的に形成され、のちに脊椎や筋組織へと分化する。体節形成期に、未分節中胚葉組織では、転写抑制因子 Hes7 をはじめとする分節時計因子が細胞間で同期して数時間周期の振動発現をする。Hes 遺伝子は bHLH 領域を持つ DNA 結合タンパク質であり、二量体を形成し自らの転写を抑制する。Hes7 は Notch リガンドの Delta-like1 (Dll1) を介して活性化された Notch シグナルの下流で転写が誘導される。Hes7 の転写・翻訳産物の不安定性および転写・スプライシングの遅延を要素とするネガティブフィードバック機構は細胞における分節時計因子の発現振動に肝要であることが示されている。分節時計因子の同期振動発現は正常な体節形成に重要であり、変異体で細胞間の振動の脱同期がおこると体節や体節由来の組織が癒合することが観察されている。未分節中胚葉細胞を分散培養すると分節時計因子の発現は不安定になるが、再集合させると Notch シグナル依存的に再同期し安定な振動を示す。Dll1 の発現も、未分節中胚葉組織において振動的であり、この振動が消失した変異体では Hes7 の振動発現が消失し体節形成異常をきたす。また、in vitro では、線維芽細胞で光遺伝学的操作により Dll1 を周期的に過剰発現誘導すると、Hes 遺伝子の振動の位相の引き込みを生じる。このことから、隣接細胞間の位相情報は Dll1-Notch によってコード・伝達・解読されることで細胞が同期する可能性が示唆される。未分節中胚葉組織では、分節時計因子の同期振動は吻側ほど周期が長く、そのため、発現領域は尾側から吻側へと狭まりながら伝播する帯状の波として観察される。しかし、振動が吻側で遅くなる機序や、振動因子の同期に重要とされる Notch リガンドの Dll1 のくわしい発現動態は明らかになっていない。本研究では、Dll1 蛍光融合タンパク質レポーターノックインマウスをもちいたリアルタイムイメージングによって発現動態を解析し、従来のレポーターでは測定が困難であった未分節中胚葉組織の細胞膜領域で Dll1 が振動的に発現していることを観察した。また、レポーターマウスを用いた Dll1 と Hes7 の発現領域の比較から、吻側では Dll1 タンパク質の発現ピークから Hes7 の転写発現ピークまでの時間が延長しており、Dll1 の刺激に対する Hes7 の応答が尾側よりも吻側で遅くなる可能性が示唆された。これらの結果は、細胞表面での Dll1 タンパク質の振動発現が Hes7 の同期的振動を制御しており、Dll1 に対する Hes7 の応答が遅延することが吻側で周期の伸長を引き起こしている可能性を示唆する。</p>			

<p>(論文審査の結果の要旨)</p> <p>体節は椎骨、肋骨、骨格筋等のもとになる節状の組織で、胎仔の尾側にある未分節中胚葉の頭側部分が周期的に分節することによって形成される。この周期的な分節過程は、転写抑制因子 Hes7 の発現が未分節中胚葉の尾側から頭側方向に波状に同期振動することによって制御される。この波状の同期振動は Notch シグナルに依存することは知られていたが、その詳細な分子機序は不明であった。</p> <p>本申請者は、Notch リガンドである Delta-like1 (Dll1)に蛍光タンパク質を融合したノックインマウスを用いてリアルタイムイメージングを行うことによって、未分節中胚葉における Dll1 タンパク質の発現パターンの動的変化を解析した。その結果、個々の未分節中胚葉細胞の細胞膜領域において Dll1 タンパク質の発現が振動することを明らかにし、これによって隣接細胞間の振動の同期化を制御する可能性を示した。また、ルシフェラーゼによる発光で Hes7 の発現を可視化する Hes7 レポーターマウスと掛け合わせて Dll1 と Hes7 の発現を同時観察することによって、Dll1 の刺激から Hes7 の応答に至る時間が尾側に比べて頭側で遅くなることを見出した。したがって、この遅れによって Hes7 の発現領域が尾側から頭側へと狭まりながら伝搬する波状のパターンになる可能性を示した。</p> <p>以上の研究は、波状の同期振動を生み出す分子機構の解明に貢献し、発生生物学研究の発展に寄与するところが多い。</p> <p>したがって、本論文は博士（ 医学 ）の学位論文として価値あるものと認める。</p> <p>なお、本学位授与申請者は、令和2年2月19日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。</p>			
<p>要旨公開可能日： 年 月 日 以降</p>			